



## Chronic mercury exposure: oxidative stress and neurotoxicity

Ceyhan HACIOĞLU<sup>\*1</sup>, Fatih KAR<sup>1</sup>, Güngör KANBAK<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Eskişehir Osmangazi University Faculty of Medicine, Medical Biochemistry Department, Eskişehir, Turkey

### Abstract

Mercury (Hg) is a bioaccumulative toxic metal that poses a high risk for human and environmental health through natural and anthropogenic emissions. Hg is an environmental toxic substance that causes neurological and developmental problems in biological systems. Although the molecular mechanisms mediating Hg-induced neurotoxicity are not fully understood, studies have shown that the oxidative stress created by this toxic substance has a critical effect on neurotoxicity. The purpose of this review is to summarize and discuss experimental and epidemiological studies that are important in elucidating oxidative damage to Hg and molecular events mediating neurotoxicity.

**Key words:** mercury, oxidative stress, neurotoxicity, amyloid plaques, aquaporins

----- \* -----

## Kronik cıva maruziyeti: oksidatif stres ve nörotoksisite

### Özet

Cıva (Hg), doğal ve antropojenik yayılımlarıyla insan ve çevre sağlığı için yüksek risk oluşturan biyoakümülatif özellikte toksik bir metaldir. Hg, biyolojik sistemlerde nörolojik ve gelişimsel problemlere neden olan çevresel kirletici bir maddedir. Hg kaynaklı nörotoksisiteye aracılık eden moleküler mekanizmalar tamamen anlaşılmamış olmasına rağmen, bu toksik maddenin yarattığı oksidatif stresin nörotoksisite üzerinde kritik bir öneme sahip olduğu yapılan çalışmalar ile ortaya konmaktadır. Bu derlemenin amacı, Hg'ye bağlı oksidatif hasarın ve nörotoksisiteye aracılık eden moleküler olayların aydınlatılmasında önemli olan deneysel ve epidemiyolojik çalışmalarını özetlemek ve tartışmaktır.

**Anahtar kelimeler:** cıva, oksidatif stres, nörotoksisite, amiloid plaklar, akuaporinler

### 1. Giriş

"Hg" sembolü ile gösterilen cıva, Latince "Sulu gümüş" anlamına gelen hidragirumdan gelir (Farina vd, 2013). Cıva (Hg), insanların çeşitli miktarlarda ve kimyasal formlarda maruz kaldıkları doğada hemen hemen her yerde bulunan bir çevresel kirleticidir (Clarkson ve Magos, 2006).

Elemental Hg (Hg<sup>0</sup>), inorganik ve organik Hg'yi de içeren çeşitli çevresel kaynakları olan Hg formudur (Bjorklund vd., 2017; Clarkson vd., 2003). Atmosferde buharlaşmış formda belli bir dereceye kadar bulunan Hg<sup>0</sup>, termostatlar, termometreler, diş amalgamları ve lateks boyalara eklenen Hg'den kaynaklanır (Patrick, 2002). Bu sıfır oksidasyon hali, oda sıcaklığında sıvı halde bulunan tek metali temsil eder. Hg<sup>0</sup>'nin ciddi mesleki sağlık sorunlarına yol açması ve inhalasyon ile çabucak emilebilir olmasının yanı sıra, küresel döngüde kritik bir öneme sahiptir (Berglund vd., 2005). Hg<sup>0</sup>, kan-beyin bariyerini geçebilir ve hücre içinde hızla iki değerlikli katyonik forma (Hg<sup>2+</sup>) okside olarak yıllarca beyin hücrelerinde tutulur (Berlin vd., 2015). Endüstride ve altın madenciliğindeki kullanımı nedeniyle, Hg<sup>0</sup>'ye mesleki açıdan maruziyet toksikolojik açıdan önemlidir (Neghab vd., 2012; Lubick, 2010). Buna ek olarak, Hg<sup>0</sup>'ye karşı iyatrojenik maruziyet bir endişe oluşturmaya devam etmektedir. Örneğin dünyanın büyük kısmında, diş hekimleri halen Hg<sup>0</sup>'yi ana bileşen olarak içeren diş amalgam dolgularını kullanmaktadırlar (Branco vd., 2017).

\* Corresponding author / Haberleşmeden sorumlu yazar: Tel.: +905315100835; Faks.: +905315100835; E-mail: ceyhanhacioglu@gmail.com

İnorganik Hg (Hg'nin iki değerli ve tek değerli katyonik formları;  $Hg^{2+}$  ve  $Hg^+$ ), kozmetik ürünler, dış çıkarma tozu, diüretik ve antiseptiklerde bulunmaktadır. Aynı zamanda  $Hg^0$  veya metilcıva (MeHg) metabolizmasından indüklenebilir (Ozuah, 2000).  $Hg^0$  bir kez absorbe edildiğinde (solunum yolu yoluyla), eritrosit sitoplazmasında bulunan süperoksit dismutaz (SOD) tarafından  $Hg^+$  ve  $Hg^{2+}$  iyonlarına okside olarak, birçok organda toksik etki göstermektedir (Zabinski vd., 2000).

Organik Hg, sıklıkla MeHg ve etilcıva (EtHg) olarak bilinen ve Hg maruziyetinin en tehlikeli ve en sık görülen formu olarak düşünülür (Crowe vd., 2017). Balık, kümes hayvanları, insektisit, fungusit, pestisit ve tiyomersal içeren aşılarda gibi çeşitli kaynaklardan maruziyetin olduğu bulunmuştur. En sık görülen maruziyet, MeHg içeren balık tüketiminin yanı sıra EtHg'ye hızla metabolize olan koruyucu tiyomersal içeren aşılarda profilaktiklerinden kaynaklanmaktadır. Tiyomersal içeren aşılarda bazı vakalarda nörolojik etkilere neden olabilen, MeHg ile birlikte EtHg'ye kümülatif maruz kalma riskini de artırdığı gösterilmiştir (Dorea, 2017). MeHg çoğunlukla suda yaşayan mikroorganizmalar tarafından gerçekleştirilen inorganik cıvanın metilasyonundan türemiştir (Compeau ve Bartha, 1985). MeHg, sucul besin zincirinde yukarıya doğru çıkıldıkça birikimi artmakta ve yarıcı balıklarda 1 ppm konsantrasyona kadar ulaşmaktadır (Hintelmann, 2010). Buna göre, balık tüketiminin çok olduğu toplumlarda yüksek MeHg seviyelerine maruz kalınabilir. MeHg, gastrointestinal yol ile yaklaşık %95 oranında absorbe edilir. Emilimi gerçekleşikten sonra, MeHg'nin %90'dan fazlası hücre içinde eritrosit hemoglobine bağlanırken, yaklaşık %6 civarında kanda bulunmaktadır (Clarkson vd., 2007). Ayrıca, MeHg, keratinin sülfidril gruplarına bağlanarak saç metal yükünün %80'inden fazlasını oluşturur (Berglund vd., 2005). Aslında, saç, beyin ve kan Hg seviyeleri sırasıyla 250:5:1 oranında korelasyon gösterdiği ve Hg seviyeleri arasındaki bu oran kişinin yaş, cinsiyet ve genetik özelliklerine göre değişmektedir (Clarkson ve Magos, 2006).

Hg'nin toksik özellikleri hedef organa ve kimyasal türüne bağlıdır. Bu derleme, oksidatif hasar ve nörotoksikolojik açıdan önemli olan Hg formlarına odaklanmaktadır: (i) Öncelikli olarak, kirlenmiş deniz ürünlerinden kaynaklanan MeHg ve  $Hg^0$ 'nin aspirasyonuna yönelik; (ii) kan beyin bariyeri (BBB) yoluyla, nörotoksikolojik öneminden bahsedilmektedir. Bu derlemenin amacı, Hg türlerine bağlı toksisite ve nörotoksitenin değerlendirilmesinde, antioksidan mekanizmalar ve temel biyolojik belirteçleri tanımlamaktır. Buna ek olarak, Hg aracılık ettiği toksitenin altında yatan mekanizmalar hakkında güncel bilgiler sunulmaktadır.

## 2. Bulgular

### 2.1. Cıva Maruziyeti ve Oksidatif Stres: Antioksidan Mekanizmalar

MeHg, öncelikle su ortamında bulunan Hg kaynaklı kirlenmeler arasında en önemlisidir (Ullrich vd., 2001). Doğada bulunan MeHg çoğunlukla, suda yaşayan mikroorganizmalar tarafından gerçekleştirilen inorganik Hg'nin biyometilasyonundan türemiştir (Compeau ve Bartha, 1985). Canlı organizmalarda MeHg'nin neden olduğu oksidatif hasar, endojen moleküllerin tiyol (-SH) ve selenol (-SeH) grupları ile tepkimesiyle oluşur ve sonuçta RSMHg ( $RSHgCH_3$ ) veya RSeMeHg ( $RSeHgCH_3$ ) gibi çok kararlı kompleks moleküller oluşur (Aschner vd., 2011).

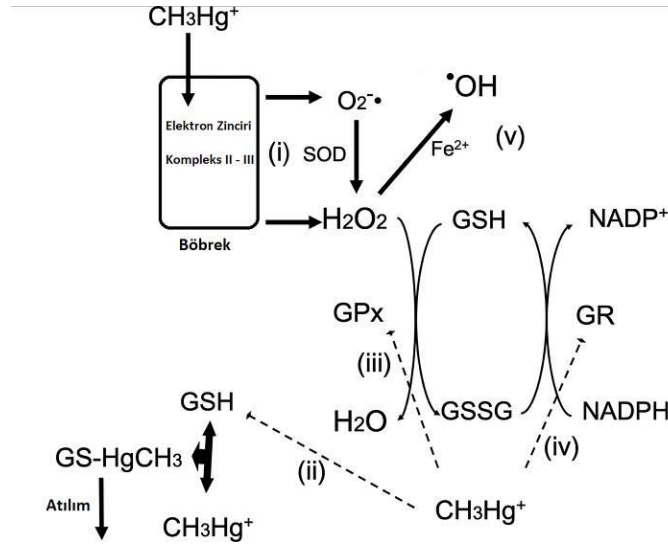
#### 2.1.1. Antioksidan Kapasite ve Akıbeti

Tiyol veya selenol içeren proteinler ve enzimler söz konusu olduğunda, S-Hg veya Se-Hg bağının oluşumu protein fonksiyonunda değişikliğe veya sistein bakımından zengin proteinlere bağlanarak çökeltiler oluşmasına neden olabilir (Franco vd., 2009; Glaser vd., 2010). Kimyasal açıdan MeHg, elektrofil olarak sınıflandırılır ve nükleofiller ile reaksiyona girer. Bu da MeHg'nin, canlı organizmalarda bulunan iki nükleofil türü olan -SH (sülfidril veya tiyol grupları) ve -SeH (selenohidril veya selenol grupları) ile reaksiyona girebileceği anlamına gelir (Carvalho vd., 2008). MeHg türleşmesi konusu önemlidir; çünkü MeHg'nin moleküler hedefleri ile ilk oksidatif etkileşimi, gastrointestinal sistemdeki hedef proteinlere doğrudan bağlanmasıyla ortaya çıkabilir veya MeHg ile kontamine balık tüketiminden kaynaklanan MeHg'nin indirgenmiş glutatyon (GSH)'da bulunan sistein kalıntılarına bağlanmasıyla ortaya çıkar (Zalupsa ve Barfuss, 2002). Merkezi sinir sistemi (MSS), böbrekler ve karaciğerde bu tür konjugatların (GSH-MeHg) oluşumu bağırsak ve plasentadan  $Hg^{2+}$  ve MeHg alımı ve atılımı ile ilgilidir (Bridges ve Zalups, 2010). Ek olarak, Hg türlerinin sistein ve selenyum içeren enzimlere kovalent olarak bağlanması enzim inhibisyonuna, reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimini artmasına ve oksidatif strese neden olabilir. MeHg, spesifik tiyol içeren proteinlere bağlanmanın yanı sıra, 5'-deiyonidaz, glutatyon peroksidaz (GPx) ve tiyoredoksin redüktaz (TrxR) gibi selenoproteinlere de kararlı bir şekilde bağlanmaktadır (Carvalho vd., 2011; Hatfield vd., 2014). MeHg maruziyetine bağlı olarak sistein, tiyol ve selenyum ile oluşan kompleksler enzim inhibisyonuna ve mitokondriyal depolarizasyona katkıda bulunabilir. MeHg tarafından kaynaklanan bu durum, mitokondride artış oksidatif stresle ilişkilendirilmiştir (Franco vd., 2010). MeHg tarafından tetiklenen aşırı ROS üretimi, mitokondri ve diğer hücre kompartmanlarında ki nükleofilik merkezlere saldırarak MeHg'nin nörotoksitesini daha da artırabilir (Roos vd., 2011).

Hg türlerinin hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), süperoksit anyonu ( $O_2^{\cdot-}$ ) ve nitrik oksit (NO) gibi reaktif oksijen/azot türlerinin (ROS/RNS) üretimini artırdığı bilinmektedir (Farina vd., 2011). MeHg, düşük ve yüksek molekül ağırlıklı biyomoleküllerin çoğunlukla tiyol ve selenol gibi nükleofilik gruplarıyla etkileşime girer. Bu tür grupların ara metabolik ve antioksidan süreçlerde yer alan sayısız enzimin katalitik aktivitesi için önemli olabilmektedir. MeHg'nin glukoz-6-

fosfat dehidrojenaz (Rodrigues vd, 2015), kreatin kinaz (Glaser vd., 2010), glutatyon redüktaz, GPx (Zemoli v, 2014) ve TrxR (Carvalho vd.,2011) gibi enzimlerin aktivitesini etkileyebileceğini göz önüne alarak, bu etkileşimlerin ROS üretimine katkı sağlayarak oksidatif metabolizmada dengesizliklere yol açmaktadır (Amoli vd., 2011).

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, hücreler tarafından üretilen en önemli ROS'dur. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin üretimi Fenton reaksiyonunun yanı sıra, mitokondriyal O<sup>2•-</sup> 'nin SOD ile katalizinden elde edilebilir (Inoue vd., 2003). MeHg'ye maruz kaldıktan sonra gözlemlenen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> düzeylerinin artması, MeHg'nin GPx'lere karşı inhibe edici etkilerini göstermektedir (Carneiro vd., 2014). MeHg maruziyetinden sonra artan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> seviyeleri ile ilgili bir diğer mekanizma, GSH'nun sistenil grubuyla yapmış olduğu konjugasyon sonrası GSH miktarının azalması ve GSH bağımlı peroksidazların H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> detoksifikasyon kapasitesinin düşmesidir (Farina vd., 2011) (Şekil 1). Böylece beyin H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> seviyelerinin yükselmesine ve lipid peroksidasyonun artmasına bağlı olarak nörotoksositeye neden olmaktadır (Franco vd., 2007; Kobal vd., 2008).



Şekil 1. (i) MeHg, mitokondriyal elektron taşıma zincirini bozarak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve O<sup>2•-</sup> gibi reaktif oksijen türlerinin oluşumuna neden olur. (ii) MeHg, vücuttan atılan MeHg-GSH kompleksini oluşturması nedeniyle GSH tükenmesine neden olur. MeHg, (iii ve iv) MSS'de glutatyon redüktaz (GR) ve glutatyon peroksidaz (GPx) aktivitelerindeki fizyolojik artışı engeller. Bütün bu olaylar (i-iv) artmış ROS üretimi ve oksidatif stres (v) ile sonuçlanır. CH<sub>3</sub>Hg: Metilçiva, GS-HgCH<sub>3</sub>: Konjuge metilçiva, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: Hidrojen peroksit, •OH: Hidroksil iyonu, O<sup>2•-</sup>: Süperoksit anyonu, H<sub>2</sub>O: Su, GSSG: Yükseltgenmiş glutatyon, NAPD: Yükseltgenmiş nikotinamid dinüklitid, NADPH: İndirgenmiş nikotinamid dinüklitid

Mitokondriyal solunum zincirinin normal işleyişinin bir ürünü olan O<sup>2•-</sup>, moleküler oksijenin bir elektron alarak indirgenmesinden sonra üretilen ROS'dur. Ek olarak, O<sup>2•-</sup>, mikroglial aktivasyon sırasında MSS'de özellikle önemli olan NADPH-oksidazın bir ürünüdür. MeHg maruziyetinin sonucu olarak üretilen çeşitli reaktif oksijen türlerini inceleyen çalışmaların çoğunda H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'ye odaklanmış olmasına rağmen, O<sup>2•-</sup> anyonun MeHg'nin neden olduğu oksidatif hasarda önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir (Shanker vd., 2004). İlginçtir ki, MeHg'ye maruz kalan balıklarda, karaciğer ve beyin SOD aktivitesi üzerinde belirgin bir etkisi bulunmamakla birlikte, MeHg'ye maruz bırakılan sıçanların beyin SOD aktivitesinde belirgin bir artış gözlenmiştir (Branco vd., 2011; de Oliveira Souza vd., 2016). Başka bir çalışmada da, kronik olarak MeHg'ye maruz bırakılan sıçanların kanlarında, SOD aktivitesi kontrollere göre değişmemiştir (Pinheiro vd., 2008). MeHg maruziyeti sonucu kan katalaz (CAT) seviyeleri arasında negatif bir korelasyonun olduğu da ortaya konmuştur (Silva de Paula vd., 2016).

NO, vücut hücrelerinde sinyal molekülü olarak kullanılan bir RNS'dir. NO, çeşitli biyolojik süreçlerin regülatörü olarak (vasküler tonu ve geçirgenlik, trombosit agregasyonu, nörotransmisyon ve mitokondriyal solunum) önemli rol oynasa da, enzim fonksiyonunun inhibisyonu ve DNA hasarının teşvik edilmesiyle inflamatuvar süreçlerin aktivasyonuna neden olmaktadır (Hollenberg ve Cinel 2009). NO, üç farklı izoformu (nöronal nitrik oksit sentaz: nNOS, endotelial nitrik oksit sentaz: eNOS, indüklenebilir nitrik oksit sentaz: iNOS) olan nitrik oksit sentaz (NOS) ile katalize edilen bir reaksiyonla L-arjinin ve moleküler oksijenden sentezlenir (Lderton vd., 2001). MeHg maruziyeti sonrası postsinaptik aralıkta kalsiyum konsantrasyonunun yükselmesine bağlı olarak NOS aktivitesi ve NO düzeylerinin artışı nörotoksositeye aracılık ettiği bildirilmiştir (Herculano vd., 2006).

## 2.2. Cıva Maruziyetine Bağlı Nörotoksosite: Nörodejenerasyon

Hg maruziyeti, Hg ile kirlenmiş deniz ürünlerinin tüketimi, madencilik ve dış amalgamları gibi mesleki faaliyetlerle ilişkilendirilir. Hg maruziyeti MSS'deki sinyal yolları ve bu yollardaki enzimler üzerine etki ederek parestezi, serebellar ataksi, bilişsel fonksiyonların azalmasına ve nörodejenerasyona sebebiyet vermektedir (Dietrich

vd., 2005; Ye vd., 2016). Hg gibi ağır metallere maruz kalmanın, amyotrofik lateral skleroz (ALS), Alzheimer hastalığı (AD), multipl skleroz (MS) ve Parkinson hastalığı (PD) gibi nörodejeneratif hastalıkların etyolojisinde önemli bir yere sahiptir (Pamphlett ve Jew 2013; Berlin vd., 2015). Ek olarak, otizm spektrum bozukluğunun (ASD) etyolojisinde Hg'nin muhtemel rolü hakkında bulgular da vardır (Parker vd., 2004).

ASD, Hg nörotoksitesinin bir biçimini temsil edebileceği belirtilmiştir (Bernard vd., 2001). Hg ve Se arasındaki karşılıklı ilişkisiyle ilgili çalışmalar, ASD'li bireylerin farklı doku örneklerinde Hg ve Se seviyeleri arasındaki korelasyonu göstermiştir (Lakshmi Priya ve Geetha, 2011). Eş zamanlı olarak, maruziyet sonrası Hg seviyesindeki belirgin artış, saç ve tırnak Se konsantrasyonlarında düşüşe neden olmaktadır (Blaurock-Busch vd., 2012).

ALS olan hastalardaki plazmanın çok elementli analizi, düşük miktarlarda yükselmiş Hg konsantrasyonunun Se ile diğer esansiyel ve esansiyel olmayan eser element seviyeleri arasında anlamlı farklılığın olmadığını ortaya koyarken (Roos vd. 2013), ilerlemiş ALS'si olan hastalarda Hg/Se oranı önemli derecede artmıştır (Moriwakaa vd., 1993).

Nörolojik hastalıklar ve modelleme çalışmalarında değiştirilen iz element seviyelerinin analizi, Hg ve Se seviyelerinin birbirleriyle ilişkili olduğunu ve Hg'dan olumsuz olarak etkilenen tek önemli iz elementinin Se'in olduğu bildirilmiştir (Pfaender ve Grabrucker, 2014).

### 2.1.1. Enzim inhibisyonu

Hg<sup>0</sup>, lipit çözünürlüğü iyi olmasından dolayı difüzyon yoluyla BBB geçerek beyin hücrelerinde, CAT ve peroksidaz aracılığıyla Hg<sup>+</sup> ve Hg<sup>2+</sup>ye oksitlenir (Magos, 1967). Kontamine deniz ürünlerinin tüketimi MeHg maruziyetinin önemli bir kaynağıdır. MeHg, nötral bir amino asit olan L-sistein aracılığıyla BBB'nin endotel hücreleri boyunca taşınır ve tercihen astrositler ve mikroglialar tarafından absorbe edilir (Brookes ve Kristt 1989; Ni vd., 2012). MeHg astrositlerde, sistein kullanımını azaltarak ROS üretimini teşvik eder. Ayrıca, MeHg, araşidonik asit sentezini uyararak, astrositler tarafından glutamat alımını engeller ve ROS üretimi yoluyla nörotoksositeye yol açar (Clarkson vd., 2003; Zimmermann vd, 2014).

Elektrofilik bir bileşik olarak MeHg'nin biyolojik sistemlerdeki biyomoleküllerin sülfidril ve tiyol gibi nükleofilik gruplarıyla etkileşir ve oksidasyona girer (Aschner vd, 2007). Buna göre, MeHg'nin sülfidril ve tiyol (nörotransmitter reseptörler, taşıyıcılar, antioksidan enzimler, vs.) gruplarına sahip protein ve aminoasitler ile olan etkileşimler sonucu enzim inhibisyonuna neden olarak, nörotoksositeye aracılık ettiği Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. MeHg'ye bağlı nörotoksositeye aracılık eden potansiyel proteinler. In vitro ve in vivo deneysel kanıtlar, MeHg'ye maruz kaldıktan sonra çeşitli proteinlerin (nöronal, astrositik ve/veya mikroglial kaynaktan) aktivitelerinin modüle edildiğini ve bunun MeHg-nörotoksitedeki rollerini göstermektedir

Protein	Etki	Metabolik Fonksiyon
5'-Deiyodinaz	↓ #	Tiroid hormon metabolizması (Watanabe vd.,2007)
Astrosit glutamin transporter	↓ #	Sinaptik boşluktan glutamin alımı (Yin vd., 2011)
Kreatin kinaz	↓ #	Enerji metabolizma (Glaser vd., 2010)
Glutamat taşıyıcıları	↓ #	Glutamat alımı (Manfroi vd., 2004)
Glutasyon peroksidaz	↓ #	Peroksit detoksifikasyonu (Farina vd., 2009)
Glutasyon redüktaz	↓↑ #	GSSG'nin GSH'ye indirgenmesi (Stringari vd., 2008)
Tiyoredoksin redüktaz	↓ #	Okside tiyoredoksinin indirgenmesi (Branco vd., 2012)

↑ ve ↓ sırasıyla pozitif veya negatif modülatör etkileri anlamına gelir. # değişkenin işlevsel seviyede (enzim aktivitesi) ölçülmüş olduğunu belirtir.

MeHg nörotoksikolojisinin ilginç bir özelliği, belirli histolojik ve davranışsal özelliklere yol açan MSS'nin spesifik bölgelerine olan tercihli yakınlığıdır (Eto vd., 2010). MeHg toksitesinin en çok görüldüğü Japonya'nın Minamata Körfezi'ndeki patolojik analizler, Hg maruziyetinin genellikle serebral ve serebellar korteks bölgelerinin daha ciddi şekilde etkilendiğini belirlemiştir (Dietrich vd, 2005). MeHg'ye maruz kalmış hayvanlarla yapılan deneysel çalışmalar, MeHg'nin serebral ve serebellar kortekste görsel, motor ve duysal bozukluklarla ortaya çıkan nörodejenerasyona neden olduğu bildirilmiştir (Carvalho vd., 2007; Eto vd., 2010).

### 2.2. Hiperfosforilasyon ve Amiloid Plakların Oluşumu

Alzheimer hastalığı (AD) yaşlılarda bunama ve senil plaklarla karakterize olan en yaygın nörodejenerasyon bozukluğudur (Todd vd, 2013). AD beyindeki senil plakları oluşturan amiloid-beta (Aβ) peptidinin birikimiyle

ilişkilidir. Başlangıçta nörofibriler yumaklardaki (NFTler) mikrotübüle bağlı tau proteininin hiperfosforile olarak agregasyonu, nöronal bağlantıların değişimine ve nöron kayıplarına yol açmaktadır (Tanzi ve Bertram, 2005). Hg ve AD arasındaki korelasyon, çeşitli hayvan modellerinde ve in vitro çalışmalarda incelenmiştir. SH-SY5Y hücre kültüründe hem A $\beta$  (1-40) hem de A $\beta$  (1-42) salınımı ve fosforile tau seviyeleri HgCl<sub>2</sub> uygulaması ile anlamlı şekilde arttığı bildirilmiştir (Olivieri vd., 2000). Hg'nin sitotoksitesi, artmış ROS üretimi ile birlikte bulunur. Dahası, sıçanlarda MeHg maruziyeti, düşük yoğunluklu lipoprotein reseptörüne bağlı protein 1'in ekspresyonunun baskılanmasına ve beyin kılcal endotelinde ileri glikasyon son ürünleri için reseptörün (RAGE) indüksiyonuyla sonuçlanması, MeHg'nin neden olduğu beyindeki A $\beta$  birikimine başka mekanizmalarında aracılık ettiğini ortaya koymaktadır (Kim vd., 2014). MeHg maruziyeti, janus kinaz yollarının aktivasyonu yoluyla serebral kortekste tau hiperfosforilasyonunu seçici bir şekilde uyarmaktadır (Fujimura vd., 2009).

Tübülün'ün Hg için en savunmasız protein olduğu varsayılmaktadır (Duhr vd, 1993). AD olan kişilerinde de olduğu gibi, hem organik hem de inorganik cıva, beyin tübülün yapılarında biyokimyasal değişikliklere neden olur. Sağlıklı insan beyin doku kültürlerinde cıva düşük konsantrasyonlarda bile olsa, nöronal fonksiyon için gerekli olan tübülün-guanozin trifosfata (GTP) bağlanmasını engellemektedir (Falconer vd, 1994). Nöronal kök hücreler ile yapılan çalışmada, 2 ve 5  $\mu$ g/ml inorganik Hg'nin 48 saat maruziyeti sonucu tübülün fonksiyonlarını bozduğu ve apoptozu indüklediği bulunmuştur (Cedrola vd., 2003). Bu nedenle, yapılan çalışmalar Hg'nin AD patogenezinde katkıda bulunduğunu gösteren kanıtlar sunmaktadır (Liu vd, 2003; Cercy ve Wankmuller, 2008; Chin-Chan vd, 2015). Bu yüzden AD'deki toksik metallerin nörotoksitesinin altında yatan mekanizmaları aydınlatmak için daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir.

### 2.3. Cıva ve Akuaporinler Arasındaki Etkileşim

Akuaporinler (AQP) Hg türlerine duyarlı su kanallarıdır. Çoğu AQP, Hg<sup>2+</sup> tarafından inhibe edilerek hücre su geçirgenliğini azaltır (Yasui vd, 1999). AQP4, memeli beyinde baskın su kanalı proteini olup BBB'yi çevreleyen astrositlerden eksprese edilir (Yukutake ve Yasui, 2010). Yapılan in vivo çalışmada, MeHg maruziyetinin beyindeki AQP4'ün mRNA seviyesinde artışa neden olduğu gösterilmiştir. Hg türlerine maruziyet, beyin metabolik fonksiyonlarında ve su geçirgenliğinde değişikliklere neden olur. Bu değişiklikler özellikle BBB'yi çevreleyen astrositlerdeki artmış AQP4 ekspresyonu, nöron ve astrositlerde oksidatif stres gelişimine ve nörodejenerasyona yol açmaktadır (Yamamoto vd. 2012).

## 3. Sonuçlar ve tartışma

Esansiyel ve esansiyel olmayan metaller arasında, demir (Fe), mangan (Mn) ve Hg'nin oksidatif hasara neden olması ve nörodejenerasyonu indüklemeye kabiliyeti nedeniyle son yıllarda büyük ilgi görmektedir (Farina vd, 2013). Özellikle, PD ve AD gibi nörodejeneratif hastalıkların etiolojisi, çevresel faktörlere veya genetik etkileşimlere büyük ölçüde bağımlılık göstermektedir (Marras ve Goldman, 2011). Özel öneme sahip bu metaller pro-oksidatif özellikleri vardır ve epigenetik olaylarla nörodejeneratif genlerin ekspresyonunu etkileyerek, gen ifadesinin değiştirilmesine ve geç başlangıçlı nörodejeneratif hastalıklara neden olabilmektedir (Kwok, 2010). Fe ve Mn aksine esansiyel olmayan Hg, yaşamında erken dönemlerinde insanların sürekli olarak çevresel ve mesleki açıdan Hg'ye maruz kalması, nörodavranışsal ve nörokimyasal kusurlar ile ilişkilendirilmiştir (Yorifuji vd, 2011). Dahası, nöral hücrelerle yapılan in vitro deneysel çalışmalar, Hg'nin glial hücre reaktivitesine neden olduğunu, amiloid öncü proteininin ekspresyonunu arttırdığını ve çözünmeyen beta-amiloid oluşumunu stimüle ederek AD patogenezinde katkı sağladığı bildirilmiştir (Monnet-Tschudi vd, 2006). Bu yüzden, AD ile ilgili yeni araştırma yönlerinin ortaya çıkması büyük önem kazanmaktadır. AD'de metal homeostazın bozulduğuna ve Hg'nin A $\beta$  agregasyonu ile tau proteininin hiperfosforilasyonuna neden olduğunu gösteren önemli kanıtlar vardır (Bush ve Tanzi, 2008). Buna dayanarak, araştırmacılar A $\beta$  agregasyonu için metal etkileşimlerinin hedeflemesi hastalığın önlenmesinde daha etkili olabileceği fikrini ortaya koyarak, AD için bir metal hipotezi önermişlerdir (Ayton vd, 2015).

Hg, hücre içi kalsiyum düzeylerinin bozulması, daha fazla reaktif oksijen türü (ROS) üreterek oksidatif stresin indüklenmesi veya hücrel oksidatif savunmanın azaltılması ve ayrıca sülfhidril gruplarıyla etkileşim yoluyla nörotoksitesiteye neden olur (Ni vd, 2012). Beyinde MeHg tercihen astrositler ve mikroglia ve daha nadiren nöronlarda birikerek, oksidatif strese neden olur ve hem mikroglia hem de astrositlerdeki antioksidan enzimatik sistemlerini harekete geçirir (Eto vd, 2010). MeHg maruziyeti, astrositlerdeki (astrositler nöronlara GSH sağlanmasında önemli bir rol oynamakta) GSH depolarını tükenmesine neden olarak nöronal oksidatif hasara katkıda bulunmaktadır (Takemoto vd, 2015). Glial hücrelerdeki ana toksisite mekanizması, nörotrofik faktörlerin salgılanmasını artırarak astrositlerde nöroprotektif bir cevaba yol açan oksidatif stresin indüksiyonu olduğu görülmektedir (Sakaue vd, 2009).

Hg<sup>0</sup> ile indüklenen ROS üretimi ve nörodejenerasyona aracılık eden moleküler mekanizmalara ilişkin veriler, MeHg'dakilere kıyasla azdır (Farina vd, 2013). Hg<sup>0</sup> diğer Hg türleri arasında akciğer, böbrek ve gastrointestinal yol gibi çeşitli dokularda genel toksitesiteye neden olur (Magos, 1967). İnsanlarda mesleki olarak Hg<sup>0</sup>'ya maruz kaldıktan sonra titreme artışı, güç ve koordinasyonda azalma yaygın görülen belirtilerdir (Yoshida vd, 2005). Hg<sup>0</sup>-nörotoksitesiteye aracılık eden mekanizmalara ilişkin veriler yetersiz olmasına rağmen mevcut kanıtlar, -SH içeren proteinlerin redoks halindeki değişikliklerin kritik bir rol oynadığını göstermektedir (Aschner vd, 2011). Hg<sup>2+</sup> (Hg<sup>0</sup>'dan türetilen) ile

MSS'deki selenoller arasındaki muhtemel etkileşim nedeniyle, Hg<sup>0</sup> tarafından ortaya çıkan nörotoksite selenoproteinlere karşı olan potansiyel bağlanma eğilimi, daha fazla dikkati hak eden önemli bir araştırma alanını temsil eder (Carvalho, 2008).

Mevcut çalışmaların sonuçlarına göre, MeHg tercihen glial orijinli hücrelerde konsantre olarak sinir sistemini etkileyebilir ve böylece oksidatif stres ve nöroinflamasyonu indükleyebilir (Farina vd., 2011). Üstelik, MeHg amino asit metabolizması ve membran fosfolipit yıkım hasarlarına neden olur (Rooney, 2007). Sucul yaşamdaki besin zincirlerinde MeHg'nin biyolojik olarak birikimi ve BBB'ni geçme kapasitesi, bu metalik bileşiği inorganik Hg'den daha toksik hale getirir (Farina vd, 2013). Son zamanlarda yapılan epidemiyolojik çalışmalar, gestasyonel dönemde balık ağırlıklı bir diyetin, doğan çocuklarda nörolojik kusurların oluşma olasılığını da arttırdığı ortaya koymuştur (Julvez vd., 2016). Diş hekimliği ve madencilik gibi mesleki açıdan Hg<sup>0</sup>'ye maruziyet, akciğerler ile görsel ve motor sistemler üzerinde olumsuz etkilere neden olur. Hg bileşikleriyle biyolojik sistemler arasında karmaşık etkileşimler vardır; bu da kritik organlarda Hg etkilerinin farklı sonuçlar göstermesine yol açar. Kısacası, Hg, aynı anda çok sayıda moleküler hedefi etkilemesi, oksidatif stresle beraber nörotoksitenin ortaya çıkmasına sebebiyet verecektir. Bu yüzden de Hg'nin spesifik birincil hedeflerinin belirlenmesi, gelişimsel süreçteki meydana gelebilecek metabolik kusurların önlenabilirliği konusunda yeni bilgiler sunabilir. Bu derlemede de, sülfir ve selenol içeren protein/enzimlerin birincil hedefler arasında yer alması ve Hg bu tür protein/enzimlere bağlanarak fiziksel ve kimyasal yapıların değişikliklere yol açarak prooksidan/oksidan dengesini bozarak nörogelişimsel süreçleri etkilediğine dair güncel yaklaşımları sunmaktadır. Dolayısıyla canlı sistemlerdeki metal homeostazı ile ilgili değişikliklerin ve yeni potansiyel hedeflerin ortaya konmasıyla, Hg maruziyetine bağlı toksisitede etkin terapötik ve nöroprotektif yaklaşımların gelişimini destekleyeceği ön görülmektedir.

## References

- Amoli, J.S., Barin, A., Ebrahimi-Rad, M., Sadighara, P. (2011). Cell damage through pentose phosphate pathway in fetus fibroblast cells exposed to methyl mercury. *J Appl Toxicol*, 31, 685-689.
- Aschner, M., Onishchenko, N., Ceccatelli, S. (2011). Toxicology of alkylmercury compounds. *Met Ions Life Sci*, 7, 403-434.
- Aschner, M., Syversen, T., Souza, D.O., Rocha, J.B., Farina, M. (2007). Involvement of glutamate and reactive oxygen species in methylmercury neurotoxicity. *Braz J Med Biol Res*, 40(3), 285-91.
- Ayton, S., Lei, P., Bush, A.I. (2015). Biometals and their therapeutic implications in Alzheimer's disease. *Neurotherapeutics*, 12(1), 109-120.
- Berglund, M., Lind, B., Björnberg, K.A., Palm, B., Einarsson, O., Vahter, M. (2005). Inter-individual variations of human mercury exposure biomarkers: a cross-sectional assessment. *Environ Health*, 3, 4-20.
- Berlin, M., Zalups, R.K., Fowler, B.A. (2015). *Mercury* (fourth ed.). Amsterdam: Academic Press.
- Bernard, S., Enayati, A., Redwood, L., Roger, H., Binstock, T. (2001). Autism: a novel form of mercury poisoning. *Med Hypotheses*, 56, 462-71.
- Bjorklund, G., Aaseth, J., Ajsuvakova, O.P., Nikonorov, A.A., Anatoly, V., Skalny, A.V., Tinkov, A.A. (2017). Molecular interaction between mercury and selenium in neurotoxicity. *Coord Chem Rev*, 332, 30-37.
- Branco, V., Caito, S., Farina, M., Teixeira da Rocha, J., Aschner, M., Carvalho, C. (2017). Biomarkers of mercury toxicity: Past, present, and future trends. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev*, 20, 119-154.
- Branco, V., Canario, J., Holmgren, A., Carvalho, C. (2011). Inhibition of the thioredoxin system in the brain and liver of zebra-seabreams exposed to waterborne methylmercury. *Toxicol Appl Pharmacol*, 251, 95-103.
- Branco, V., Canario, J., Lu, J., Holmgren, A., Carvalho, C. (2012). Mercury and selenium interaction in vivo: effects on thioredoxin reductase and glutathione peroxidase. *Free Radic Biol Med*, 52,781-793.
- Bridges, C.C., Zalups, R.K. (2010). Transport of inorganic mercury and methylmercury in target tissues and organs. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev*, 13, 385-410.
- Brookes, N., Kristt, D.A. (1989). Inhibition of amino acid transport and protein synthesis by HgCl<sub>2</sub> and methylmercury in astrocytes: selectivity and reversibility. *J Neurochem*, 53, 1228-1237.
- Bush, A.I., Tanzi, R.E. (2008). Therapeutics for Alzheimer's disease based on the metal hypothesis. *Neurotherapeutics*, 5(3), 421-432.
- Carneiro, M.F., Grotto, D., Barbosa, F.Jr. (2014). Inorganic and methylmercury levels in plasma are differentially associated with age, gender, and oxidative stress markers in a population exposed to mercury through fish consumption. *J Toxicol Environ Health A*, 77, 69-79.
- Carvalho, C.M., Chew, E.H., Hashemy, S.I., Lu, J., Holmgren, A. (2008). Inhibition of the human thioredoxin system. A molecular mechanism of mercury toxicity. *J Biol Chem*, 283(18), 11913-23.
- Carvalho, C.M., Lu, J., Zhang, X., Arner, E.S., Holmgren, A. (2011). Effects of selenite and chelating agents on mammalian thioredoxin reductase inhibited by mercury: implications for treatment of mercury poisoning. *FASEB J*, 25, 370-381.

- Carvalho, M.C., Franco, J.L., Ghizoni, H., Kobus, K., Nazari, E.M., Rocha, J.B., Nogueira, C.W., Dafre, A.L., Müller, Y.M., Farina, M. (2007). Effects of 2,3-dimercapto-1-propanesulfonic acid (DMPS) on methylmercury-induced locomotor deficits and cerebellar toxicity in mice. *Toxicology*, 239, 195-203.
- Cedrola, S., Guzzi, G., Ferrari, D., Gritti, A., Vescovi, A.L., Pendergrass, J.C., La Porta, C.A. (2003). Inorganic mercury changes the fate of murine CNS stem cells. *FASEB J*, 17, 869-871.
- Cercy, S.P., Wankmuller, M.M. (2008). Cognitive dysfunction associated with elemental mercury ingestion and inhalation: a case study. *Appl Neuropsychol*, 15(1), 79-91.
- Chin-Chan, M., Segovia, J., Quintanar, L., Arcos-Lopez, T., Hersh, L.B., Chow, K.M., Rodgers, D.W., Quintanilla-Vega, B. (2015). Mercury Reduces the Enzymatic Activity of Neprilysin in Differentiated SH-SY5Y Cells. *Toxicol Sci*, 145(1), 128-37.
- Clarkson, T.W., Magos, L. (2006). The toxicology of mercury and its chemical compounds. *Crit Rev Toxicol*, 36, 609-62.
- Clarkson, T.W., Magos, L., Myers, G.J. (2003). Human exposure to mercury: The three modern dilemmas. *J Trace Elem Exp Med*, 16, 321-343.
- Clarkson, T.W., Magos, L., Myers, G.J. (2003). The toxicology of mercury current exposures and clinical manifestations. *N Engl J Med*, 349, 1731-1737.
- Clarkson, T.W., Vyas, J.B., Ballatori, N. (2007). Mechanisms of mercury disposition in the body. *Am J Ind Med*, 50(10), 757-64.
- Compeau, G.C., Bartha, R. (1985). Sulfate-reducing bacteria: principal methylators of mercury in anoxic estuarine sediment. *Appl Environ Microbiol*, 50, 498-502.
- Crowe, W., Allsopp, P.J., Watson, G.E., Magee, P.J., Strain, J.J., Armstrong, D.J., Ball, E., McSorley, E.M. (2017). Mercury as an environmental stimulus in the development of autoimmunity-a systematic review. *Autoimmun Rev*, 16, 72-80.
- de Oliveira Souza, V.C., de Marco, K.C., Laure, H.J., Rosa, J.C., Barbosa, F.Jr. (2016). A brain proteome profile in rats exposed to methylmercury or thimerosal (ethylmercury). *J Toxicol Environ Health A*, 79, 502-512.
- Dietrich, M.O., Mantese, C.E., Anjos, G.D., Souza, D.O., Farina, M. (2005). Motor impairment induced by oral exposure to methylmercury in adult mice. *Environ Toxicol Pharmacol*, 19, 169-75.
- Dietrich, M.O., Mantese, C.E., Anjos, G.D., Souza, D.O., Farina, M. (2005). Motor impairment induced by oral exposure to methylmercury in adult mice. *Environ Toxicol Pharmacol*, 19(1), 169-75.
- Dorea, J.G. (2017). Low-dose Thimerosal in pediatric vaccines: adverse effects in perspective. *Environ Res*, 152, 280-293.
- Duhr, E.F., Pendergrass, J.C., Slevin, J.T., Haley, B.E. (1993). HgEDTA complex inhibits GTP interactions with the E-site of brain beta-tubulin. *Toxicol Appl Pharmacol*, 122(2), 273-80.
- Eto, K., Marumoto, M., Takeya, M. (2010). The pathology of methylmercury poisoning (Minamata disease): The 50th Anniversary of Japanese Society of Neuropathology. *Neuropathology*, 30, 471-479.
- Falconer, M.M., Vaillant, A., Reuhl, K.R., Laferrriere, N., Brown, D.L. (1994). The molecular basis of microtubule stability in neurons. *Neurotoxicology*, 15(1), 109-22.
- Farina, M., Aschner, M., Rocha, J.B. (2011). Oxidative stress in MeHg-induced neurotoxicity. *Toxicol Appl Pharmacol*, 256, 405-417.
- Farina, M., Avila, D.S., da Rocha, J.B., Aschner, M. (2013). Metals, oxidative stress and neurodegeneration: A focus on iron, manganese and mercury. *Neurochem Int*, 62(5), 575-94.
- Farina, M., Avila, D.S., da Rocha, J.B., Aschner, M. (2013). Metals, oxidative stress and neurodegeneration: A focus on iron, manganese and mercury. *Neurochem Int*, 62(5), 575-94.
- Farina, M., Campos, F., Vendrell, I., Berenguer, J., Barzi, M., Pons, S., Sunol, C. (2009). Probulcol increases glutathione peroxidase-1 activity and displays long-lasting protection against methylmercury toxicity in cerebellar granule cells. *Toxicol Sci*, 112, 416-26.
- Farina, M., Rocha, J.B., Aschner, M. (2011). Mechanisms of methylmercury-induced neurotoxicity: evidence from experimental studies. *Life Sci*, 89, 555-63.

*(Received for publication 23 November 2016; The date of publication 15 December 2017)*